

해수에서 분리된 *V. cholerae* non-O1 FM-7의 용혈독소에 관한 연구

배기정 · 박미연 · 김기현 · 장동석
부경대학교 식품공학과

서론

비브리오균은 현재까지 약 30여종이 알려져 있는 그람음성의 종속영양세균으로, 이 중 12종이 사람에게 질병을 일으킨다고 보고되고 있으며, 우리나라에서 문제가 종종 발생하는 비브리오균은 패혈증 비브리오, 장염 비브리오 그리고 *V. cholerae* non-O1을 들 수가 있다.

V. cholerae O1과 형태학적, 생화학적, 생물학적 성상은 일치하지만, 콜레라균의 항혈청에는 응집하지 않는 일군의 세균을 *V. cholerae* non-O1이라고 부른다. 이 세균은 콜레라균과 같이 담수와 해수가 합해지는 하구 부근 등의 기수지역에 많이 서식하며 자연환경이나 식품 중에도 종종 검출되고 있으며, 유럽, 구미 등에서도 하구 부근, 해수, 하천수, 하수와 같은 지역에서 분리되고 있다. 이 균은 세포벽에 콜레라균보다 5배 더 많은 peptidoglycan을 가지고 있어서 환경적인 변동 하에서도 더 잘 생존할 수 있다고 알려져 있다.

V. cholerae non-O1에 의한 임상증상은 콜레라와 같은 설사가 주된 경우와 설사증과 복통, 발열, 구토 또는 출혈변을 병행하는 경우로 나눌 수 있다. 전자에는 콜레라독소(CT)와 유사한 독소가 병원인자로 추정되고, 후자에는 CT와 유사한 독소 외에 여러 가지 독소가 병원인자로 추정되고 있다. 또한 환경으로부터 분리된 *V. cholerae* non-O1은 cholera toxin(CT)-like enterotoxin)과 여러 가지 cytotoxins를 포함한 다양한 독소를 분비한다고 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 해수로부터 분리된 *V. cholerae* non-O1 FM-7을 사용하여 배지성분이 용혈독소의 생산에 미치는 영향을 조사하였으며, 각 배지에서 생산된 용혈독소를 hydrophobic column인 Phenyl-Sepharose column을 이용하여 부분정제하고, 부분정제된 독소의 온도안정성과 양이온에 의한 영향을 검토한 것을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

해수에서 분리된 *Vibrio* 분리균주들은 인제대학교 부속 부산백병원으로부터 제공 받았으며, 표준균주는 ATCC로부터 구입하여 사용하였고 배지는 HI broth, BHI broth와 3% Glycerol이 첨가된 Marine broth 2216을 사용하였다. 그리고, 용혈독소 정제에 사용된 column은 Pharmacia Co(Sweden).의 hydrophobic column인 phenyl sepharose HiLoad 16/10을 사용하여 *V. cholerae* non-O1 FM-7가 생산한 용혈독소의 용혈활성, 단백질 정량, 최적온도, 열안정성 및 양이온의 영향을 살펴보았다.

결과 및 요약

조독소액의 경우 BHI broth를 사용했을 때보다 HI broth와 3% glycerol이 첨가된 Marine broth를 사용했을 때 비활성이 각각 4배와 7배나 더 높게 나타났다. 그리고, HiLoad 16/10 Phenyl Sepharose column으로 부분정제를 했을 경우에 purification fold는 BHI broth는 3,125였고, 3% glycerol이 첨가된 Marine broth는 14,166으로 Marine broth를 사용했을 때가 BHI broth를 사용했을 때보다 5배정도 더 높은 정제율을 나타내었고, 용혈독소의 열안정성은 37°C까지는 3시간 경과 후에도 초기활성과 차이가 거의 없었으나 50°C 이상의 온도에서는 1시간 반응 후 급격하게 활성이 낮아짐을 알 수 있었다. 또한, 양이온의 효과는 1가 양이온의 경우는 활성에 그리 큰 영향을 미치지 않았으나 2가 양이온은 활성을 50%정도 저해했고, 특히 Fe²⁺의 경우에는 1시간 반응 후에 독소의 용혈활성을 거의 100% 저해하는 효과를 나타내었다.

참고문헌

- 張東錫. 1994. 水產物에서 分離된 病原性 비브리오균의 溶血性毒素. 한국수산학회지, 27(2), 107-113.
- Gyobu, Y., H. Komada and S. Sato. 1992. Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae*. I. Enteropathogenicity of clinical and environmental isolates. Kansenshogaku-Zasshi, 65(5), 531-536.
- Gyobu, Y., H. Komada and S. Sato. 1992. Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae*. II. Lethality adhesion, colonization and cytopathogenicity of enteropathogenic strains. Kansenshogaku-Zasshi, 65(6), 665-671.
- Gyobu, Y., H. Komada and S. Sato. 1992. Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae*. III. Production of enteroreactive toxins. Kansenshogaku-Zasshi, 65(7), 781-787.
- Gyobu, Y., H. Komada and S. Sato. 1992. Studies on the enteropathogenic mechanism of non-O1 *Vibrio cholerae*. IV. Role of hemolysin. Kansenshogaku-Zasshi, 65(8), 897-904.
- Honda, T. 1991. Pathogenesis, genes and toxins of genus Vibrios. Medical

Immunology, 21(3), 313-323.

주성아, 주진우. 1996. *Vibrio mimicus*가 생산하는 β -용혈소의 정제와 면역학적 성상. 대한미생물학회지, 31(4), 433-449.

김신희, 박미연, 이용언, 조묘현, 장동석. 1997. 해수분리 *Vibrio cholerae* non-O1 FM-3의 Hemolysin. 한국수산학회지, 30(4), 556-561.

이은우. 1999. 해수에서 분리한 *Vibrio cholerae* non-O1 CT의 용혈 독소 및 병원성 *Vibrio*균의 신속동정에 관한 연구. 부경대학교 대학원 공학석사 학위논문.